维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2001)03－0225－03

小鼠胚胎脊髓及脊神经节中的细胞凋亡

汪维伟

(重庆医科大学基础医学院组织胚胎学教研室 重庆 400016)

【摘 要】目的:观察小鼠胚胎脊髓(spinal cord,SC)和脊神经节(spinal ganglion,SG)发生中的细胞凋亡。方法:以体视学方法观察 E12d～E15.5d ICR 胎鼠 H.E 染色石蜡连续切片中臂丛段、胸段、腰从段的 SC 和 SG 的凋亡细胞密度(Density of apoptotic cell,DAC)。部分切片用 TUNEL 法标记凋亡细胞作对照。结果:胎鼠 SC 和 SG 中均见核碎裂的凋亡细胞。SC 中的凋亡细胞主要分布在基板,偶见于翼板。统计结果显示,三段 SC 中的 DAC 峰值均在 E14 d,$P<0.01$;臂丛段的 DAC 高于后两段,除 E15d 外,P 均<0.05。胸段和腰从段 SG 中的 DAC 峰值均在 E15d,$P<0.01$;臂丛段的 DAC 峰值不明显。结论:E12d～E15.5d 胎鼠 SC 和 SG 中,凋亡细胞主要见于脊髓的基板和脊神经节。SC 的 DAC 峰值较 SG 早一天。DAC 的峰值可能与其组织分化有关。

【关键词】细胞凋亡;脊髓;脊神经节;小鼠胚胎;体视学

【中国图书分类法分类号】Q954.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2000－11－29

The apoptosis of spinal cord and spinal ganglion in the mouse embryo

WANG Wei-wei

(Department of Histology and Embryology, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University)

【Abstract】 ***Objective***: To observe the apoptosis of developing spinal cord and spinal ganglion in the mouse embryo. ***Methods***: The density of apoptotic cell(DAC) of the brachial plexus, thoracic and lumbar plexus of spinal cord (SC)and spinal ganglion (SG)in the serial sections of fetal ICR mice aged 12～15.5 days was measured with the stereological method. The apoptosis was also showed with TUNEL method in some sections for contrast. ***Results***: The apoptotic cells with karyorrhexis can be seen in SC and SG of fetal mice. The apoptotic cells of SC are mainly located in the basal plate, but rarely in the alar plate. The statistical results showed that the peak values of DAC in the three sections of SC all appeared on day 14, $P<0.01$; the peak value of DAC in the brachial plexus of SC was higher than the other two sections, $P<0.05$, except day 15. The peak values of DAC in the thoracic and lumbar plexus of SG all appeared on day 15, $P<0.01$; the DAC of brachial plexus was not clear. ***Conclusion***: The apoptotic cells in SC and SG of fetal mice aged 12～15.5 days were mainly found in the basal plate of SC and the SG. The peak values of DAC in SC were one day earlier than in SG. The peak values of DAC in the three sections of SC and SG may be related with their tissue－differeniation.

【Key words】 Apoptosis; Spinal cord; Spinal ganglion; Fetal mouse; Stereology

早在本世纪初,胚胎学家就发现动物胚胎神经系统在发育过程中有细胞的死亡,近年的文献报道约有 20%～90%神经细胞在发育过程中退变死亡。细胞死亡在神经系统形态发生和功能分化中起着非常重要的作用,多数发育中神经细胞退变有细胞凋亡(Apoptosis)的形态学改变[1,2]。胚胎脊髓和脊神经节中的细胞凋亡已有报道。本文用体视学法观察了 E12d～E15.5d 胎鼠臂丛段、胸段、腰从段的 SC 和 SG 中细胞凋亡密度(Density of Apoptotic cells, DAC),探讨其间的差异、时序规律和意义。

1 材料和方法

1.1 标本制备 ICR 未交配小鼠(体重 25～30g)按 Otis 法 1 雄 3 雌合笼 1h 后,检查阴栓,阳性者计交配龄为 0d。孕鼠分别于第 E12,13,14,15,15.5d 断脊髓,剖腹取胎鼠。每窝

作者介绍:汪维伟(1952－),女,教授,硕士。主要研究方向:胚胎组织发生与分化。

维普资讯 http://www.cqvip.com

取中间体重的胎鼠 2 只，经 Bouin 固定 24～28h，制作 H. E 染色石蜡连续切片(厚 5μm)。另取胎鼠选部分切片用原位末端标记法(In - situ TdT - mediated dUTP nick end labelling，TUNEL)显示凋亡细胞作对照(德国宝灵曼公司试剂，染色方法按产品说明实施)。

1.2 观察统计 光镜下在胎鼠连续切片中选择臂丛段(C_5～T_1)，胸段(T_4～T_8)和腰从(T_{12}～L_4)的脊髓横切面和与前、后根神经相连的脊神经节切面观察，E12d～E13d 胎鼠腰丛段脊髓弯曲，连续切片中无横切面，故未观察。在选定的切面中每间隔 3 张切片，用测微网格测定 SC 和 SG 的面积。油镜下计数 SC 和 SG 中的凋亡细胞：以圆形散在的含强嗜酸性胞质和核碎片的凋亡小体计为一，多个凋亡小体形成的凋亡小体群计为一。计算出 DAC(凋亡细胞数/μm^2)。对各段 DAC 间的差异作方差分析或 t 检验。

2 结 果

2.1 胎鼠 E12d 时，脊髓三层已分化形成，但边缘层很薄，套层的基板和翼板明显。脊神经节已形成。E14d 时，脊髓基、翼板均扩大，其中的细胞小，胞质少，弱嗜碱性，基板周的边缘层厚于翼板周的边缘层。E15d 时，脊髓基板和脊神经节中的细胞明显增大，胞质嗜碱性增强。E12d～E15.5d 胎鼠的 SC 和 SG 中均可见已碎裂形成凋亡小体的凋亡细胞。凋亡小体多为圆形，含核碎片或仅为强嗜酸性的胞质碎片。多为数个凋亡小体聚集成群，似由一个细胞凋亡后形成；少数为单个散在的凋亡小体(图 1、2)。SC 中的凋亡细胞主要见于套层的基板，偶见于翼板，室管膜层、顶板和底板中极少见。图 3 为 SC 和 SG 中 TUNEL 方法标记的凋亡细胞。

2.2 DAC 统计结果：脊髓的 DAC 统计结果见图 4。三段 SC 的 DAC 峰值均在 E14d，$P<0.01$。臂丛段的 DAC 峰值高于其它两段，除 E15d 外，P 均<0.05。脊神经节中的 DAC 统计结果见图 5。胸段和腰丛段 SG 中的 DAC 峰值在 E15d，$P<0.01$；臂丛段的 DAC 峰值不明显。

3 讨 论

神经系统在胚胎发育过程中先形成过量的细胞，后有多达半数的细胞死亡。在神经板、神经沟、神经管的演变及神经嵴细胞迁移过程中的细胞死亡，被认为是其形态发生的需要[3～5]。神经系统后期发育过程中的细胞死亡，被认为与淘汰在神经细胞分化、建立神经通路和突触联系过程中失败或错误的细胞有关[1,2]。在致畸研究中也发现致畸因子通过大量细胞凋亡导致中枢神经系统的发育畸形[6]。

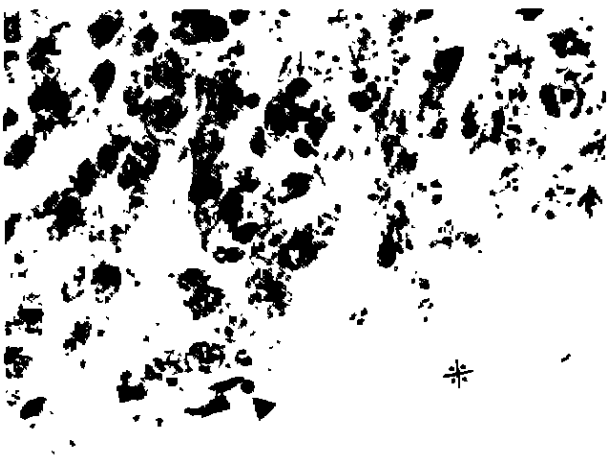


图 1 E14d 胎鼠脊髓示基板内凋亡细胞(↑)，有核红细胞(▲)，边缘区(※)。(H. E. ×160)

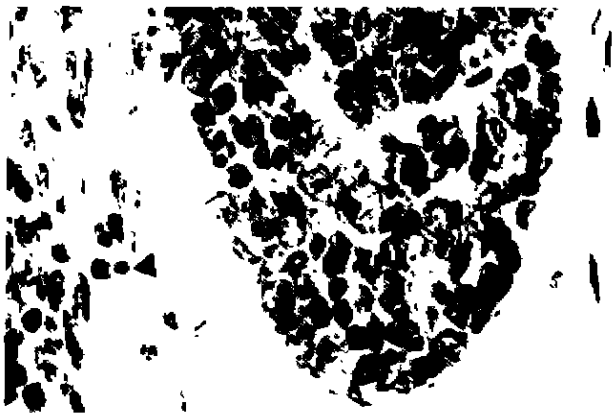


图 2 E15d 胎鼠脊神经节。示凋亡细胞(↑)，有核红细胞(▲)，(H. E. ×160)



图 3 E13d 胎鼠脊髓(SC)和脊神经节(SG)内的凋亡细胞(↑) (TUNEL 标记，H 复染，×80)

脊椎动物神经系统发育过程中不同部位的细胞

维普资讯 http://www.cqvip.com

凋亡有时间和程度的差异。Burek 等[7]报道鸡胚 E6.5～9.5d 出现脊髓运动神经细胞的凋亡，认为最早出现的运动神经元最先发生凋亡。大鼠脊髓运动神经细胞的凋亡为 E15d。本文在 E12d～15.5d 胎鼠 SC 和 SG 中均见到细胞凋亡，其峰值分别在 E14d 和 E15d，表明运动神经元的细胞凋亡峰值略早于感觉神经元。但此期前、后是否还有凋亡峰值，尚待继续研究。

E12d～15.5d 胎鼠脊髓的臂丛段、胸段和腰从段中的凋亡细胞主要分布在脊髓套层的基板内，偶见于翼板，室管膜层、顶板和底板中很少见。这三段

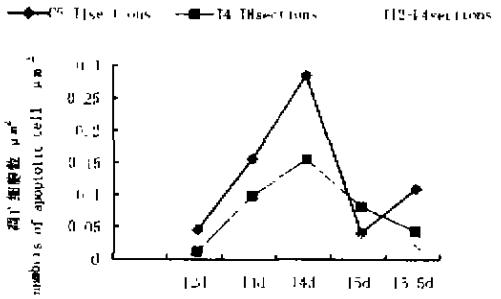


图 4 12d－15.5d 胎鼠三段脊髓的凋亡细胞密度

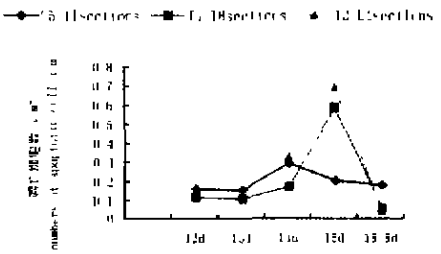


图 5 12d－15.5d 胎鼠三段脊神经节凋亡细胞密度

脊髓的细胞凋亡峰值均在 E14d，且臂丛段的凋亡细胞峰值明显高于后两段(见图 4)。从形态发生来看，E14d 胎鼠的前肢已形成前足趾。骨骼肌分束仍不明显，但肌细胞已呈长柱状，周边位的核呈长椭圆形，肌浆增多，其中已见肌原纤维，而且伸入前肢的神经粗细程度已达 E12d 时的一倍。从脊髓的发育来看，E14d 脊髓的基、翼板均扩大，其中的细胞小，胞质少，弱嗜碱性，基板周的边缘层厚于翼板周的边缘层。故我们认为此期脊髓中细胞凋亡可能与组织分化有关：一方面神经细胞分裂、分化或者细胞间相互联系的建立异常，可导致细胞死亡。所以，我们在脊髓各部分都能见到凋亡的细胞。另一方面，脊髓基板主要分化为运动神经元，与周围组织中的肌细胞竞争建立联系失败的神经细胞也被淘汰而死亡。故我们在基板中见到的凋亡细胞多，而且臂丛段的凋亡峰值也与前肢的骨骼肌分化一致。E15d 时，脊髓基板中的细胞明显增大，胞质嗜碱性增强。这可能为神经细胞与骨骼肌细胞建立联系后，从靶细胞获得生长营养因子，促进了神经细胞生长。

Geffen 等[8]报道了 E2.5d 鸡胚颈神经节(C2)中的细胞凋亡及其与形态发生的关系。本文在 E12d－15.5d 胎鼠 SG 中均见到细胞凋亡，胸段和腰从段 SG 的凋亡峰值在 E15d，臂丛段的凋亡峰值不明显(见图 5)，且明显低于后两段。E15d 时，胎鼠皮肤未见真皮乳头，表皮为 3～4 层上皮，周皮仅为一层不连续的核固缩细胞，基底层细胞呈短柱状。体壁表皮已出现略向真皮突入呈锥状的毛始基。此时，皮肤尚在分化中，触觉小体、环层小体等有被囊的感觉神经末梢尚未形成，故 SG 中的细胞凋亡可能与淘汰和脊髓后角中间神经元竞争形成突触失败的细胞有关。

参 考 文 献

[1] Naruse I, Keino H. Apoptosis in the developing CNS [J]. Prog Neurobiol, 1995;47(2):135－155.

[2] Albert C, Lucien JH, Oppenheim RW, et al. Apoptosis in the nervous system: Morphological features, methods, pathology, and prevention[J]. Arch Histol Cytol, 1995;58(2):139－149.

[3] Weil M, Jacbson MD, Raff MC. Is programmed cell death required for neural tube closure ? [J] Curr Biol, 1997;7(4):281－284.

[4] Yaginuma H, Tomita M, Takashita N, et al. A novel type of programmed neuronal death in the cervical spinal cord of the chick embryo[J]. J Neurosci, 1996;16(11):3685－3703.

[5] 蒙一纯，Philip Brauer，贲长恩. 鸡胚早期神经系统发育中凋亡细胞的分布研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志，2000;9(2):142－144.

[6] Maden M, Gale E, Zile M. The role of vitamin A in the development of the central nervous system. [J]. J Nutr, 1998;128(2 suppl):471S－475S.

[7] Burek MJ, Prevette D, Oppenheim RW, et al. A temporal relationship between motorneuron birthdate and onset of programmed cell death[J]. Soc Neuro Sci Abstr, 1996;22(1):43－50.

[8] Geffen R, Goldstein RS. Rescue of sensory ganglia that are programmed to degenerate in normal development: Evidence that NGF modulates proliferation of DRG cells in vivo[J]. Develop Biol, 1996;178:51－62.